

肉桂醇脱氢酶（CAD）检测试剂盒（肉桂酸微板法）

产品货号：BA1699

产品规格：60T

产品简介：

肉桂醇脱氢酶(cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD)是催化香豆醛形成松柏醇的酶。该酶多存在于高等植物、酵母、菌类可溶性部分物质，属于细胞木质素合成途径中间的关键酶，研究该酶可以探讨多种生物细胞发育过程中木质素沉积的代谢机理，为减少水果石细胞含量提高其品质提供依据。

肉桂醇脱氢酶(CAD)检测试剂盒(肉桂酸比色法)检测原理是以肉桂酸、NADP作为底物，在酶促反应的最适条件下采用每隔一定时间测定产物生成量的方法，于分光光度计340nm处检测吸光度，以吸光度变化所需酶量进行计算，该试剂盒主要用于植物组织的裂解液或匀浆液、血清等样品中内源性的肉桂醇脱氢酶活性，尤其适用于检测水果中肉桂醇脱氢酶活性，60T可以检测约57~58个样品。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

试剂名称	60T	保存条件
试剂(A): CAD Lysis buffer	80ml	2-8℃，避光
试剂(B): CAD Assay buffer	10ml	2-8℃，避光
试剂(C): NADP	1 支	-20℃
试剂(D): CAD 终止液(备选)	1ml	室温

自备材料：

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管或试管
4. 低温离心机
5. 水浴锅或恒温箱
6. 96 孔板酶标仪

操作步骤：

1. 准备样品：
 - ①植物样品：取 1g 植物组织或水果中层果肉置于液氮中迅速研磨或匀浆，加入 1ml 预冷的 CAD Lysis buffer，4℃ 10000g 离心 15~20min，留取上清液，-20℃冻存，用于肉桂醇脱氢酶的检测。
 - ②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，-20℃冻存，用于肉桂醇脱氢酶的检测。
 - ③细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如有必要用 CAD Lysis buffer 进行适当匀浆，10000g，4℃ 10000g 离心 15~20min，取上清液，-20℃冻存，用于肉桂醇脱氢酶的检测。
 - ④高活性样品：如果样品中含有较高活性的肉桂醇脱氢酶，可以使用 CAD Lysis buffer 稀释进行恰当的稀释。
2. 配制 CAD Assay buffer 工作液：取 1 支 NADP 完全溶解于 10ml CAD Assay buffer，即为 CAD Assay buffer 工作液。CAD Assay buffer 工作液 4℃保存 1 周，-20℃保存 3 个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. CAD 加样：取 96 孔板，按照下表设置对照孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 CAD 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物 (μL)	对照孔	测定孔
CAD Lysis buffer	40	-
待测样品	-	40
CAD Assay buffer 工作液	160	160

4. CAD 检测：以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为 $A_{\text{测定}0}$)。37℃ 准确孵育 10min，立即加入 10 μl CAD 终止液终止反应(备选方案)，以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为 $A_{\text{测定}1}$)。注意：加入 CAD 终止液终止反应不是必须步骤，可 37℃ 准确孵育 10min 后直接以对照孔为对照(调零)，酶标仪立即测定 340nm 处测定孔的吸光度(记为 $A_{\text{测定}1}$)。尚宝建议立即检测，加样时间越短越好，其反应基本在 1~5min 内，其后反应趋于平缓。

注意：该反应系统是利用速率变化，求得相应 OD 的变化，进而推算出 NADP 的消耗速率，再进一步推算出 CAD 的量，因此立即计时很重要，每次检测指标不宜过多，否则有可能由于操作时间有差异进而导致结果偏差。

计算：

CAD 活性单位的定义：在该实验条件下，每 1min 吸光度变化 0.01 所需酶量为一个活性单位。

组织样品 $CAD(U) = \{(A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) \times V_T\} / (W \times V_S \times 0.01 \times t)$

式中： $A_{\text{测定}1}$ = 孵育 10min 后测定管的吸光度

$A_{\text{测定}0}$ = 加入 CAD Assay buffer 工作液后立即测定的测定管吸光度

W = 组织样本的重量(g)

V_T = 提取酶液的总体积(ml)

V_S = 测定时所用酶液体积(ml)

t = 反应时间(min) = 10

液体样品 $CAD(U) = (A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) / (0.01 \times t)$

式中： $A_{\text{测定}1}$ = 准确孵育 10min 测定管的吸光度

$A_{\text{测定}0}$ = 加入 CAD Assay buffer 工作液后立即测定的测定管吸光度

t = 反应时间(min) = 10

注意事项：

- 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 提 CAD 酶液取时，注意低温操作，防止酶活性，亦可 -20℃ 保存。
- CAD 终止液具有一定腐蚀性，请小心操作。
- 如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

6 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com